

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Nusinersen: uma mudança de paradigma na evolução natural da atrofia muscular espinhal?

Francisco da Cruz Pontes Martins da Costa

M

2018



Artigo de Revisão Bibliográfica
Mestrado Integrado em Medicina

Nusinersen: uma mudança de paradigma na evolução natural da atrofia muscular espinhal?

Autor: Francisco da Cruz Pontes Martins da Costa
mim11169@icbas.up.pt

Orientadora: Maria Guilhermina Ferreira de Sá Reis Veloso
Assistente Hospitalar Graduada do Serviço de Pediatria do Centro Materno Infantil
do Norte - Centro Hospitalar do Porto
Docente Auxiliar Convidada do Mestrado Integrado em Medicina do Instituto de
Ciências Biomédicas Abel Salazar

Porto, Maio de 2018

Autor: Francisco da Cruz Pontes Martins da Costa

Francisco da Cruz Pontes Martins da Costa

Orientadora: Maria Guilhermina Ferreira de Sá Reis Veloso

Maria Guilhermina Ferreira de Sá Reis Veloso

Data: Maio de 2018

Agradecimentos

Gostaria de agradecer em primeiro lugar à Dr.^a Guilhermina Reis, pela disponibilidade e orientação na realização desta dissertação, e pela ajuda na escolha deste tema que me cativou e mostrou novos horizontes da ciência.

Agradeço aos meus pais, que me deram todas as oportunidades e todo o apoio para que eu pudesse superar os desafios que o curso e a vida me trouxeram, e que são, para mim, um exemplo da importância da perseverança e dedicação.

Ao meu irmão, que me acompanhou e encorajou sempre.

À Francisca, que acreditou em mim em todos os momentos, pela dedicação, paciência e felicidade com que me presenteou.

“Medicine is not only a science; it is also an art. It does not consist of compounding pills and plasters; it deals with the very processes of life, which must be understood before they may be guided.”

Paracelso

Resumo

Introdução: As Atrofias Musculares Espinhais (SMAs) são um conjunto de doenças genéticas que provocam fraqueza e atrofia muscular progressiva por défice de proteína SMN, e são a causa monogénica mais comum de mortalidade infantil. Recentemente foi aprovado o primeiro tratamento dirigido à causa da doença na Europa e nos Estados Unidos da América, o nusinersen, também conhecido pelo nome comercial Spinraza®, o que veio dar nova esperança a doentes, familiares e médicos que lidam com esta doença.

Objetivos: Este trabalho pretende rever a literatura publicada relativamente à eficácia e segurança da utilização de nusinersen no tratamento da Atrofia Muscular Espinhal, e de que forma este fármaco recentemente aprovado pode modificar as práticas clínicas previamente estabelecidas e a história natural desta doença.

Metodologia: Realizou-se uma pesquisa nas bases de dados eletrónicas PubMed e Google Scholar, identificando-se artigos científicos publicados até Abril de 2018, em Português ou Inglês. Foram escolhidos artigos sobre a genética e clínica da SMA, e sobre o nusinersen e os seus ensaios clínicos. Adicionalmente foi feita uma pesquisa sobre a disponibilidade do nusinersen em Portugal.

Resultados: Os ensaios clínicos realizados até agora mostram um claro benefício na utilização do nusinersen para o tratamento da SMA, particularmente em doentes com SMA do tipo I e II. Houve melhorias globais do desenvolvimento motor, alguns doentes atingiram etapas de desenvolvimento que não seriam esperadas tendo em conta a história natural da doença. No entanto, apesar de melhorias significativas, o nusinersen não foi suficiente para que estas crianças tivessem um desenvolvimento normal, não podendo ser considerado uma cura. O perfil de segurança também se mostrou adequado, pelo que a razão entre o risco e o benefício torna a utilização do nusinersen uma opção terapêutica válida.

Conclusões: O nusinersen é a primeira opção terapêutica dirigida com benefícios claros no tratamento da SMA, devendo ser feitos esforços no sentido de o disponibilizar aos doentes afetados por esta doença. Provou-se ser mais eficaz quanto mais cedo for iniciado, sendo importante a implementação de medidas que permitam um diagnóstico e início de tratamento precoces. Existem, no entanto, exigências técnicas e económicas na sua utilização que terão de ser ultrapassadas, havendo já planos para que seja disponibilizado em Portugal, nos hospitais do SNS.

Palavras-Chave: Nusinersen, Spinraza, Atrofia Muscular Espinhal

Abstract

Introduction: Spinal Muscular Atrophies are a group of genetic diseases causing weakness and progressive muscular atrophy, as a result of a SMN protein deficit. SMA is the most common monogenic cause of child mortality. The first treatment directed at the cause of the disease has recently been approved in Europe and United States of America, nusinersen, also known by its commercial name Spinraza®, which gave patients, families and doctors who deal with this condition new hope.

Objectives: This paper intends to review published literature regarding the efficacy and safety of nusinersen in the treatment of Spinal Muscular Atrophy, and evaluate how this recently approved drug might change previously established clinical practices and the disease's natural history.

Methods: A literature search was performed using the PubMed and Google Scholar online databases, identifying papers published until April 2018 in Portuguese or English. Papers concerning SMA's genetics and clinical history were selected, as were papers about nusinersen and its clinical trials. Research about nusinersen's availability in Portugal was also conducted.

Results: Clinical trials conducted so far have shown a clear benefit in using nusinersen to treat SMA, particularly, in patients with type I and type II SMA. These patients haven shown global improvement in motor development and many have achieved motor development stages they wouldn't have been expected to considering the diseases' natural history. However, despite the significant improvement, nusinersen use wasn't sufficient to provide these patients with normal development, which means it is not a cure. The safety profile was shown to be adequate, which means the risk-benefit ratio makes nusinersen a valid therapeutic choice.

Conclusions: Nusinersen is the first targeted therapeutic option with clear benefits in the treatment of SMA, meaning efforts must be made to make it available to patients with this disease. It has been shown to be more effective the earlier it is started, so there should be a focus on early diagnose and treatment initiation. There are, however, technical and economic requirements in its use that must be met, and there are already plans to make nusinersen available in Portugal, in SNS's hospitals.

Keywords: Nusinersen, Spinraza, Spinal Muscular Atrophy

Lista de Abreviaturas

- Atrofia Muscular Espinhal – **SMA**
- Agência Europeia do Medicamento - **EMA**
- *Children's Hospital of Philadelphia Infant Test of Neuromuscular Disorders* - **CHOP-INTEND**
- Esperança Média de Vida – **EMV**
- *Hammersmith Functional Motor Scale Expanded* - **HFMSE**
- *Hammersmith Infant Neurological Exam – Part 2* - **HINE-2**
- Líquido cefalorraquidiano - **LCR**
- Oligonucleótido *Antisense* – **ASO**
- Serviço Nacional de Saúde - **SNS**
- US Food and Drug Administration - **FDA**
- Ventilação Não Invasiva – **VNI**

Índice

Resumo	iii
Introdução:	iii
Objetivos:	iii
Metodologia:	iii
Resultados:	iii
Conclusões:	iii
Palavras-Chave:	iii
Abstract	iv
Introduction:	iv
Objectives:	iv
Methods:	iv
Results:	iv
Conclusions:	iv
Keywords:	iv
Introdução	1
Epidemiologia da SMA	1
Classificação da SMA	2
Tratamentos Disponíveis Anteriormente	4
Suporte Respiratório:	4
Suporte Nutricional/Gastrointestinal:	4
Suporte Ortopédico	5
O Nusinersen	6
Ensaio Clínico do Nusinersen	8
1 - Doentes sintomáticos com manifestações precoces	8
1.1 - Ensaio Clínico CS3A	8
1.2 - Ensaio Clínico CS3B - ENDEAR	10
2 - Doentes sintomáticos com manifestações precoces ou tardias	11
2.1 - Ensaio Clínico SM202 – EMBRACE	11
2.2 - Ensaio Clínico CS11- SHINE	11
3 - Doentes sintomáticos com manifestações tardias	12
3.1 - Ensaios Clínicos CS1 e CS10	12
3.2 - Ensaios Clínicos CS2 e CS12	12
3.3 - Ensaio Clínico CS4 – CHERISH	13
4 - Doentes pré-sintomáticos	14
4.1 - Ensaio Clínico SM201- NURTURE	14
Conclusões	15
Apêndice	17
Figura 1	17
Bibliografia	18

Introdução

As atrofas musculares espinhais (SMAs) são um conjunto de doenças genéticas, caracterizadas, clinicamente, por fraqueza e atrofia muscular progressivas, sem compromisso cognitivo. São causadas pela degeneração de neurónios motores da medula espinhal, e em casos mais graves, também, dos neurónios motores inferiores do bulbo, como resultado de um défice de proteína SMN.¹ A SMA é, em 95% dos casos, uma doença autossómica recessiva, resultante da deleção ou mutação homozigóticas que envolvem o gene da “sobrevivência do neurónio motor” (SMN1) no locus 5q13. Em indivíduos saudáveis o gene SMN1 é responsável pela produção de proteína SMN, pelo que os doentes com SMA vão ter níveis diminuídos desta proteína e consequentemente perda seletiva de neurónios motores.² A SMA apresenta um grande espectro de manifestações clínicas e de gravidade, o que pode ser explicado pela existência de dois tipos de genes SMN em cada alelo: SMN1 e SMN2. Em indivíduos saudáveis a transcrição do gene SMN1 gera uma proteína SMN de tamanho completo, funcionante. Já o gene SMN2 apesar de semelhante ao SMN1, difere deste num nucleótido, ao nível do exão 7, o que o leva a produzir proteínas mais curtas, não funcionantes e rapidamente degradadas chamadas de SMN Δ 7, podendo ainda assim cerca de 10% a 15% das proteínas produzidas ser de tamanho completo, e portanto funcionantes. Assim, os doentes que sofrem de SMA dependem da produção, ainda que pouco eficiente, de proteína SMN pelo gene SMN2, visto que possuem um gene SMN1 não funcionante. A razão para a grande variabilidade clínica observada parece prender-se com o número de cópias do gene SMN2, que é também muito variável entre doentes com SMA, sendo que, tendencialmente, doentes com um maior número de cópias do gene SMN2 apresentam um fenótipo mais leve da doença.³ ⁴ Há variações significativas no fenótipo de doentes com o mesmo número de cópias de SMN2, pelo que existirão outros fatores com papel na gravidade da doença, tendo sido já identificados modificadores genéticos da SMA como a plastina-3 (PLS3) ou a neurocalcina delta (NCALD) que alteram a manifestação da doença.⁵

Epidemiologia da SMA

A incidência é de cerca de 1 em cada 10.000 recém-nascidos e a prevalência do estado de portador é de aproximadamente 1 em cada 54 indivíduos na população geral, o que faz da SMA a causa monogénica mais comum de mortalidade infantil.^{6, 7} No entanto, a incidência de SMA é menor do que a elevada prevalência de portadores faria supor. Uma hipótese avançada para justificar esta discrepância é a de que poderá haver um genótipo “0+0” SMN1/SMN2, ainda não relatado, por provavelmente resultar em morte fetal.⁸

Classificação da SMA

Os fenótipos de SMA distribuem-se por um espectro de gravidade contínuo, sem uma separação concreta. Clinicamente podemos dividir as SMAs em cinco grupos, do tipo 0 ao tipo IV, de acordo com a sua gravidade e idade de início da sintomatologia, o que é útil em termos de prognóstico e tratamento.^{9, 10}

Em todas as formas de SMA há fraqueza muscular difusa dos músculos proximais, que é mais evidente nos membros inferiores, com ausência ou diminuição marcada dos reflexos osteotendinosos.

O tipo 0 é a forma mais grave da doença, manifesta-se por hipotonia severa em recém-nascidos, que podem apresentar arreflexia e história de movimentos fetais diminuídos. Podem ter defeitos das câmaras cardíacas ou das articulações ósseas, entre outras patologias. A paragem respiratória é uma constante preocupação desde os primeiros momentos de vida, tendo estes doentes uma esperança média de vida (EMV) inferior a 6 meses. A característica essencial para a sua definição é o início das manifestações durante a gestação com diagnóstico ao nascimento.^{11, 12}

Em doentes com SMA do tipo I, também conhecida como doença de *Werdnig-Hoffman*, o diagnóstico é feito entre os 0 e os 6 meses de vida, tendo estas crianças uma fraqueza muscular proximal progressiva que afeta mais os membros inferiores do que os superiores. É comum a apresentação inicial com hipotonia, pobre controlo cefálico e reflexos osteotendinosos reduzidos ou ausentes antes dos 6 meses de vida. Estes doentes nunca conseguem adquirir a capacidade de se sentarem sem apoio, sendo por isso também frequente a designação de *nonsitters*, assumindo uma “posição de batráquio” quando deitados como resultado da hipotonia marcada. Têm com frequência fraqueza dos músculos intercostais, sendo poupado o diafragma, com um tórax em forma de sino e um padrão de respiração paroxística ou abdominal. Podem apresentar também fasciculações da língua e dificuldades na deglutição, condicionando uma má evolução ponderal e risco aumentado de aspiração. Em fases mais tardias da doença podem apresentar uma fraqueza facial. A doença evolui para um quadro de insuficiência respiratória, sendo a EMV inferior a 2 anos sem utilização de medidas de suporte respiratório. A cognição destas crianças não é afetada, sendo comum apresentarem uma expressão facial atenta, que contrasta com a fraqueza generalizada.^{13, 14, 15} Este é o fenótipo mais comum da doença, representando cerca de 50 a 60% dos doentes com SMA.^{16, 17}

Crianças com SMA do tipo II (também conhecida como forma intermédia ou doença de Dubowitz) conseguem em alguma fase do seu desenvolvimento psicomotor sentar-se sem apoio, sendo por isso apelidados de *sitters*. No entanto, nunca chegam a adquirir marcha

autónoma. Geralmente a sintomatologia inicia-se entre os 6 e os 18 meses de vida, com fraqueza proximal progressiva, mais marcada nos membros inferiores, hipotonia e arreflexia. As comorbilidades, geralmente relacionadas com complicações ortopédicas são escoliose progressiva, anquilose da articulação temporomandibular, entre outras patologias. A escoliose associada à fraqueza dos músculos intercostais condiciona ainda o aparecimento de doença pulmonar restritiva significativa.^{9, 18} Um estudo feito com 240 doentes com SMA do tipo II mostrou sobrevidas de 98,5% e 68,5% aos 5 e aos 25 anos de idade, respetivamente.¹⁹

Os doentes com SMA do tipo III, também conhecida como doença de *Kugelberg-Welander*, são capazes de andar sozinhos em alguma fase da sua vida. O início da sintomatologia ocorre depois dos 18 meses, e alguns autores fazem a distinção entre tipo IIIa, com início entre os 18 meses e os 3 anos de idade, e tipo IIIb com início depois dos 3 anos.¹⁰ Tal como os outros tipos de SMA, apresentam fraqueza muscular proximal progressiva, mais marcada nos membros inferiores, o que pode fazer com que percam a autonomia da marcha, com necessidade de cadeira de rodas para se movimentarem. Ao contrário dos doentes do tipo II, raramente desenvolvem escoliose ou fraqueza dos músculos respiratórios, o que contribui para que a sua EMV seja semelhante à da população geral.¹⁹

A SMA do tipo IV representa a forma mais leve da doença, com uma apresentação semelhante ao tipo III mas mais tardia, manifestando-se depois dos 30 anos de idade, embora alguns autores considerem inícios mais precoces nesta categoria. A capacidade de marcha é geralmente mantida ao longo da vida e a EMV não é alterada. O número de cópias do gene SMN2 nestes doentes é geralmente superior a quatro.^{2, 20}

Tratamentos Disponíveis Anteriormente

Até ao aparecimento do nusinersen não existia nenhum tratamento dirigido à causa da doença. Os cuidados de saúde limitavam-se à prevenção de complicações provocadas pela doença e terapêuticas de suporte. Destacando-se o suporte respiratório, nutricional/gastrointestinal e ortopédico.

Suporte Respiratório:

A principal causa de morte em crianças com SMA tipo I e tipo II é a falha respiratória, devido ao envolvimento precoce dos músculos respiratórios na patologia. Em crianças com SMA tipo I a implementação precoce de Ventilação Não Invasiva(VNI) mostrou melhorar a sobrevida e a qualidade de vida, sendo geralmente bem tolerada. No entanto esta terapêutica costuma ser aplicada para melhorar a qualidade de vida e não para o seu prolongamento.²¹ A utilização de pressão positiva com dois níveis (BiPAP) é bem tolerada, sendo possível a sua utilização no domicílio. Quando a VNI deixa de ser suficiente é preciso decidir se se prossegue para uso de traqueostomia e ventilação permanente.

Em doentes com SMA tipo II o tratamento com VNI é semelhante, mas com complicações menos severas. Estes doentes têm frequentemente dificuldades na mobilização e eliminação de secreções na via aérea, recorrendo-se à cinesiterapia respiratória e técnicas de assistência à tosse.²¹

Nestes indivíduos devem ser utilizados antibióticos em qualquer caso de doença pulmonar aguda pela elevada probabilidade de desenvolverem pneumonia e as complicações respiratórias associadas.²²

Suporte Nutricional/Gastrointestinal:

Desconhece-se se a causa das complicações gastrointestinais, que são frequentes, é devida à imobilidade e défices nutritivos ou se a própria doença causa uma alteração da motilidade gastrointestinal. As crianças com SMA tipo I têm tempos de alimentação prolongados e cansam-se facilmente, o que pode ser a primeira manifestação de fraqueza muscular, condicionando uma má progressão ponderal e situações de aspiração. As disfunções gastrointestinais incluem dificuldades na alimentação e deglutição devido a disfunção bulbar, que se manifesta por fraqueza da língua, dificuldade em abrir a boca e fraco controlo cefálico. Outros problemas como refluxo gastrointestinal, esvaziamento gástrico retardado e obstipação também podem surgir.²³ Estas complicações são mais

frequentes em indivíduos que não conseguem andar ou sentar-se do que em indivíduos com mobilidade preservada.¹⁸

A gestão destas complicações é geralmente feita através de alterações da dieta para que inclua alimentos semissólidos ou líquidos espessados para reduzir a disfagia e o risco de aspiração. No entanto, em alguns doentes é recomendada uma gastrostomia precoce ou uma fundoplicatura de Nissen (se houver refluxo gastro-esofágico) para ser mantida uma nutrição adequada e reduzir o risco de infeção pulmonar secundária a aspiração.²⁴

Suporte Ortopédico

A fraqueza muscular e a mobilidade reduzida são fatores predisponentes para patologia musculoesquelética. O diagnóstico precoce e a gestão adequada destas complicações é essencial para manter a função e melhorar a qualidade de vida dos doentes. Exercícios que ajudem a preservar a flexibilidade e prevenir contraturas são muito utilizados, e cadeiras de rodas manuais ou elétricas podem ter de ser utilizadas desde os 18 meses de idade, se a marcha não for possível. Crianças com capacidade de marcha podem precisar de outros apoios para manterem a mobilidade.²²

A escoliose está presente em quase todos os doentes com SMA sem marcha autónoma. Quando não tratada pode causar deformidades da caixa torácica que agravam a dificuldade respiratória. A fisioterapia pode ajudar a evitar estas consequências, no entanto, muitos doentes são sujeitos a cirurgias como a artrodese da coluna vertebral, embora a eficácia destas intervenções, neste tipo de patologias neuromusculares, não seja consensual.^{25, 26}

O Nusinersen

O nusinersen, comercializado sob o nome de Spinraza®, é um oligonucleótido *antisense* (ASO), desenvolvido para aumentar a produção de proteína SMN. É o primeiro fármaco aprovado para o tratamento de todos os tipos de SMA, tendo recebido aprovação pela *US Food and Drug Administration* (FDA) em Dezembro de 2016 e pela Agência Europeia de Medicamentos (EMA) em Abril de 2017.^{27, 28} Apesar de estarem a ser desenvolvidos outros fármacos dirigidos à causa da doença, o nusinersen é, atualmente, o único aprovado por estas agências para o tratamento da SMA.^{28, 29, 30}

O défice da proteína SMN é a principal causa para a clínica da SMA, pelo que o nusinersen foi desenvolvido para aumentar a sua produção. Como mencionado anteriormente, além do gene SMN1, alterado na SMA, os humanos possuem também o gene SMN2, virtualmente idêntico a este, à exceção de uma transição de C para T (Citosina para Timina). Esta alteração cria um inibidor do *splicing* do exão 7 do SMN2, o que faz com que durante o *splicing*, que transforma o pré-mRNA em mRNA, o exão 7 não seja incluído em cerca de 90% das cadeias de mRNA originadas a partir do gene SMN2. A posterior tradução destes segmentos de mRNA, sem o exão 7, dá origem à proteína SMN Δ 7, que é instável e tem funcionalidade reduzida. No entanto, cerca de 10% das cópias produzidas através do SMN2 dão origem à proteína SMN funcional, sendo que indivíduos com SMA estão dependentes desta produção pouco eficiente da proteína SMN.¹

O nusinersen é um oligonucleótido *antisense* (ASO) modificado desenvolvido para se ligar a uma sequência específica no intrão do exão 7, atuando ao nível do silenciador do *splicing* intrónico ISS-N1 no pré-mRNA do SMN2. O ISS-N1 é dependente das ribonucleoproteínas nucleares heterogêneas hnRNP, pelo que o nusinersen atua afastando as hnRNP do local de ligação do ISS-N1, fazendo com que o *splicing* do SMN2 produza mRNA que inclua o exão 7 e dê mais tarde origem a proteínas SMN de tamanho completo e funcionais (Figura 1).³¹

O principal alvo desta terapêutica são as células do sistema nervoso central, mas o nusinersen, tal como outros ASOs, tem dificuldade em penetrar a barreira hemato-encefálica, pelo que os ensaios clínicos têm administrado o nusinersen por via intratecal através de punção lombar.³² A necessidade de administração através de punção lombar é menos cómoda do que outros métodos, como a injeção intravenosa, podendo ter maiores riscos, particularmente nestes doentes, visto terem frequentemente patologia óssea, como escoliose, ou cirurgias ortopédicas prévias, que podem dificultar o procedimento.

A segurança desta via de administração foi avaliada em doentes inscritos nos ensaios clínicos do nusinersen, que se submetem a este procedimento múltiplas vezes. *Hache M.*

e colaboradores avaliaram um total de 73 punções lombares em 28 doentes, com idades entre os 2 e os 14 anos, com SMA do tipo II/III. Cerca de 68% das punções lombares foram efetuadas sem qualquer evento adverso ter sido descrito. Nos restantes 32% os eventos adversos mais frequentes foram cefaleia e dor lombar que resolveram com repouso, hidratação, cafeína oral ou analgésicos. A utilização de meios de imagiologia pode ajudar na realização segura do procedimento. Os autores recomendam preferencialmente a utilização de controlo ecográfico e não da fluoroscopia, pela exposição a radiação ionizante, particularmente em doentes sujeitos a múltiplas administrações do fármaco. Concluem assim, que a administração intratecal do nusinersen por punção lombar é possível, segura e bem tolerada.³² Também os ensaios clínicos realizados para avaliar o nusinersen mostraram um perfil de segurança adequado.^{31, 33, 34, 35}

Ensaaios Clínicos do Nusinersen

1 - Doentes sintomáticos com manifestações precoces

1.1 - Ensaio Clínico CS3A

Este é um estudo de fase 2, multicêntrico, sem ocultação, realizado em doentes diagnosticados com SMA e com sintomatologia presente desde a infância. Tem como objetivo avaliar a segurança, a tolerabilidade, a farmacocinética e a eficácia da administração de múltiplas doses de nusinersen (doses equivalentes de 6mg e 12mg). Aceitou doentes com deleção ou mutação homozigótica do gene SMN1, de ambos os géneros, com idades entre as 3 semanas e os 7 meses de vida, com início dos sintomas entre as 3 semanas e os 6 meses. Selecionaram-se 20 doentes, que foram distribuídos em dois grupos: o primeiro grupo, com 4 doentes, fez uma dose equivalente de 6mg de nusinersen nas primeiras 3 administrações, passando a 12mg nas seguintes; o segundo grupo, com 16 doentes, em que todas as doses foram de 12mg, cumpriu o mesmo calendário de administrações, recebendo doses nos dias 1, 15, 85, 253 e a cada 4 meses depois disso. Foram feitas visitas de acompanhamento nos dias 16, 29, 86, 92, 169, 254, 337, 442 e a cada 4 meses depois disso. Determinou-se o número de cópias do gene SMN2 no dia 85.

A análise de segurança foi feita através de registo de eventos adversos, exame físico e neurológico, análise de sinais vitais e testes laboratoriais. A avaliação da eficácia clínica incluiu o acompanhamento das capacidades motoras através do *Hammersmith Infant Neurological Exam – Part 2* (HINE-2), que avalia etapas gerais do desenvolvimento motor em crianças, e do *Children's Hospital of Philadelphia Infant Test of Neuromuscular Disorders* (CHOP-INTEND), um teste de função motora criado especificamente para avaliar a função motora em crianças com SMA. Para efeitos de comparação com a história natural da doença previamente publicada, foram também avaliados a sobrevida, colocação de traqueostomia e uso diário de ventilação para analisar o *endpoint* “idade até morte ou idade até ventilação permanente” (a ventilação permanente é definida como traqueostomia ou uso de ventilador superior a 16 horas por dia durante pelo menos 2 semanas, na ausência de doença aguda reversível).

Os doentes tinham uma idade mediana de início de sintomatologia de 60 dias e idade mediana no início do estudo de 141 dias, tendo morrido 3 doentes no decorrer do estudo. Dos 19 doentes em que foi possível determinar o número de cópias do gene SMN2, 17 tinham 2 cópias e 2 doentes tinham 3 cópias (ambos estavam no grupo de 12mg).

Foram comunicados resultados após uma avaliação planeada, que ocorreu 18 meses depois da admissão do último doente, tendo estes doentes tido um período de seguimento entre os 2 e os 32 meses, e recebido entre 2 a 9 doses de nusinersen. Na altura desta avaliação, todos os doentes tinham tido registos de eventos adversos durante o estudo, 570 no total. No entanto, a maioria foram leves (63%) ou moderados (27%) em gravidade, tendo ocorrido 70 eventos graves em 16 doentes, mas que não foram considerados como sendo relacionados com o fármaco, tendo consistido principalmente em agudizações das dificuldades ou infeções respiratórias, complicações associadas à história natural da SMA.

As melhorias no HINE-2 foram identificadas num dos quatro doentes do grupo de 6mg e em todos os doentes do grupo de 12mg, na última visita, em comparação com o início do estudo, e foram consideradas estatisticamente significativas. A avaliação global através do CHOP-INTEND mostrou uma melhoria média de 11,5 pontos desde o início ($p=0,008$) com 14 dos 18 doentes a mostrarem melhoria; no grupo de 12mg a mediana do aumento foi de 15,2 pontos ($p=0,0013$) tendo 12 dos 14 doentes mostrado melhoria, o que contrasta com a história natural da doença em que seria de esperar uma diminuição mediana da pontuação de 1,27 pontos por ano. Uma pontuação superior a 40 no CHOP-INTEND, raramente observada em doentes com SMA tipo I com duas cópias SMN2 não tinha sido observada em nenhum dos doentes no início, no entanto no final do estudo estava presente em 7 dos 13 doentes do grupo de 12mg. Aquando da análise, ainda não tinha sido atingida a idade mediana de morte ou ventilação permanente, visto que a maioria dos doentes ainda continuavam a viver sem necessidade de ventilação permanente.

Foram analisadas as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas em autópsia dos 3 doentes que morreram durante o estudo, que confirmaram de forma geral que o fármaco estava a atuar da forma desejada, com distribuição pela espinal medula, cérebro e neurónios motores em concentrações suficientes e com aumento da quantidade mRNA SMN2 de comprimento completo.

Globalmente houve uma melhoria na avaliação motora destes doentes, tendo alguns ganho funções que não seriam esperadas num doente com SMA tipo I, como controlo cefálico ou capacidade de se sentar de forma independente. No entanto, apesar destes progressos, os doentes continuaram a não atingir as etapas de desenvolvimento esperadas numa criança saudável. Apesar de resultados promissores, trata-se de um estudo com um número reduzido de participantes, sem ocultação, pelo que os resultados carecem de mais validação, tendo sido por isso desenvolvidos mais ensaios clínicos posteriores. Ainda assim, foram obtidos dados importantes sobre a segurança, que permitiram que estudos seguintes incluíssem regimes de doseamento mais frequente.³³

1.2 - Ensaio Clínico CS3B - ENDEAR

Este é um estudo de fase 3, randomizado, duplamente cego, controlado com simulação, que pretendia avaliar a eficácia e segurança clínicas do nusinersen, em crianças com SMA com início da sintomatologia aos 6 meses de idade ou mais cedo, com idade igual ou inferior a 7 meses no início do estudo, e com duas cópias do gene SMN2. É um ensaio internacional, multicentro, realizado em 31 instituições durante um período de 13 meses. Os parâmetros de avaliação primários pretendiam analisar o atingimento de etapas de desenvolvimento motor (através da escala HINE-2) e a sobrevida livre de ventilação permanente (definida como tempo até à morte ou necessidade de ventilação permanente, de acordo com as definições usadas em estudos anteriores). Foram também estabelecidos parâmetros de avaliação secundários que incluíram sobrevida global, análise de subgrupos de acordo com duração de doença no início do estudo ou evolução no CHOP-INTEND, entre outros.

Um total de 121 lactentes foram randomizados num rácio de 2:1 entre nusinersen ou procedimento de simulação. Os dois grupos tinham características globalmente equilibradas, embora os lactentes do grupo do nusinersen tivessem um maior peso de consequências da doença e início de sintomas mais precoce. No início todas as crianças eram sintomáticas e hipotónicas, um fenótipo que as classifica com SMA do tipo I. Os doentes no grupo do nusinersen foram submetidos a doses de carga equivalentes a 12mg nos dias 1, 15, 29 e 64, e doses de manutenção nos dias 183 e 302, tendo os doentes do grupo de controlo sido submetidos a procedimentos de simulação nos mesmos dias. Uma avaliação intermédia programada, quando cerca de 80 crianças estavam inscritas no estudo pelo menos há 6 meses, mostrou um perfil de risco-benefício favorável ao nusinersen. Nesta avaliação intermédia uma percentagem significativa de doentes no grupo do nusinersen tinha tido uma resposta positiva na aquisição de etapas de desenvolvimento motor em comparação com o grupo de controlo (41% vs 0%, $P < 0,001$), sendo esta diferença mais notável numa análise final posterior (51% vs 0%). A sobrevida sem acontecimentos foi também superior no grupo do nusinersen (61% vs 32%; *Hazard Ratio* 0,53[0,32-0,89; $p = 0,005$]), particularmente em crianças com duração de doença no início do estudo inferior à mediana de 13,1 semanas (77% vs 33%; *Hazard Ratio* 0,24[0,10-0,58]). De forma global o risco de morte ou uso permanente de ventilação foi cerca de 47% inferior no grupo do nusinersen. Também nos pontos de avaliação secundários, o nusinersen mostrou ser globalmente superior ao controlo, nomeadamente na resposta avaliada pelo CHOP-INTEND e mortalidade global. Na análise de subgrupos verificou-se que crianças que tinham sintomatologia com menor duração no início do ensaio tinham maior probabilidade de sobrevivência sem acontecimentos. Na análise de segurança a

proporção de eventos foi semelhante entre os grupos, pelo que se concluiu que não existiam preocupações sérias a este nível.

Os resultados deste estudo vieram confirmar os resultados positivos de estudos prévios em relação à segurança e eficácia do nusinersen. Os resultados da análise de subgrupos sugerem também que o início precoce da medicação está associado a melhores resultados. Apesar dos resultados encorajadores, várias crianças morreram em ambos os grupos, e o nusinersen não foi suficiente para que qualquer doente tivesse um desenvolvimento motor normal, sendo que alguns precisaram de suporte ventilatório e nutricional, concluindo os autores que o nusinersen não é uma cura em doentes sintomáticos. Os resultados positivos da avaliação intermédia levaram a que este ensaio fosse interrompido precocemente por considerações éticas, tendo os participantes sido convidados a participar no estudo de extensão, sem ocultação, CS11-SHINE, que será analisado adiante.³⁴

2 - Doentes sintomáticos com manifestações precoces ou tardias

2.1 - Ensaio Clínico SM202 – EMBRACE

A primeira parte deste estudo era um ensaio clínico de fase 2, duplamente cego, controlado com simulação, destinado a integrar doentes que não cumpriam os requisitos para os ensaios ENDEAR ou CHERISH, que será analisado adiante. Os doentes foram distribuídos numa proporção de 2:1 nos grupos de nusinersen e controlo, e foi avaliada a evolução na escala HINE-2 como ponto secundário exploratório. Este estudo foi terminado precocemente após os resultados positivos do estudo ENDEAR. Ainda assim uma maior percentagem de doentes no grupo do nusinersen teve uma resposta motora positiva na escala de HINE-2 quando comparado com o grupo de controlo (79% vs 29%), e o perfil de segurança foi considerado satisfatório.³⁶

2.2 - Ensaio Clínico CS11- SHINE

Este estudo de extensão de fase 3 sem ocultação, para doentes anteriormente incluídos nos ensaios ENDEAR, CHERISH e CS12, pretende avaliar a eficácia e segurança da utilização do nusinersen a longo prazo. Por se tratar de um estudo recente e que ainda está a decorrer ainda existem poucos resultados publicados, mas os disponíveis parecem confirmar os resultados obtidos em estudos prévios.³⁷

3 - Doentes sintomáticos com manifestações tardias

3.1 - Ensaio Clínico CS1 e CS10

Estudo de fase 1, com o objetivo principal de avaliar a segurança, tolerabilidade, farmacocinética e eficácia clínica preliminar de injeções intratecais de nusinersen. Foram selecionados doentes sintomáticos com SMA tipo II e III, com idades entre os 2 e os 14 anos. Um total de 28 doentes foram distribuídos em 4 grupos com as dosagens de 1mg (n=6), 3mg (n=6), 6mg (n=6) ou 9mg (n=10), tendo sido acompanhados durante 9 a 14 meses. Não foram reportados eventos adversos graves durante a extensão do estudo. Os eventos adversos reportados por cerca de 89% dos participantes foram leves ou moderados em intensidade e sobretudo relacionados com a punção lombar. Além disso, nenhum dos doentes desenvolveu anticorpos anti-nusinersen durante o estudo, e todas as avaliações laboratoriais indicaram a segurança do fármaco. Foi possível medir as concentrações do nusinersen no plasma e no líquido cefalorraquidiano (LCR), sendo que estas eram dose-dependentes. Não houve relação entre a idade ou peso e a concentração no LCR, o que vai de encontro à literatura prévia que afirmava que o volume de LCR é sensivelmente constante em crianças com mais de 2 anos, sugerindo que a partir desta idade possam ser utilizadas doses fixas. O tempo de semi-vida do nusinersen foi estimado entre 4 e 6 semanas, o que possibilita que após serem atingidos níveis desejados do fármaco durante a fase inicial possam ser efetuadas administrações de manutenção menos frequentemente, com intervalos entre os 4 e os 6 meses. Os resultados preliminares de eficácia mostraram melhoria significativa da função motora, principalmente no grupo de 9mg na escala *Hammersmith Functional Motor Scale Expanded* (HFMSE). Este facto, aliado à ausência de problemas de segurança na dosagem levou a que fosse sugerida avaliação de doses superiores a 9mg em estudos posteriores. Este estudo mostrou resultados de segurança e eficácia preliminares que mostraram um rácio risco-benefício favorável, levando à realização de outros ensaios, com maiores doses, maior número de doentes, e em diversas faixas etárias e estadios da doença.³¹

3.2 - Ensaio Clínico CS2 e CS12

Estes dois ensaios clínicos foram realizados como extensão dos ensaios CS1 e CS10 para avaliar a eficácia clínica do nusinersen e a sua segurança. No entanto, apesar de alguns autores fazerem referência a resultados positivos que vão de encontro aos dados de outros estudos, não foi possível aceder à fonte destes resultados.^{38, 39}

3.3 - Ensaio Clínico CS4 – CHERISH

Este ensaio clínico de fase 3 foi realizado com doentes com SMA de início tardio. Foi realizado em 24 centros, em 10 países, e incluiu 126 doentes distribuídos na proporção de 2:1 entre nusinersen e controlo, num ensaio randomizado, duplamente cego, controlado com simulação. Foram selecionados doentes com SMA com início da sintomatologia após os 6 meses de idade e com idade entre os 2 e os 12 anos. O ponto de avaliação primário estabelecido foi a alteração da pontuação na escala HFMSE aos 15 meses de estudo, tendo sido também propostas avaliações secundárias como a percentagem de doentes com melhoria clínica significativa (subida da pontuação HFMSE ≥ 3 pontos). Os doentes foram submetidos a injeção intratecal de nusinersen ou procedimento de simulação nos dias 1, 29 e 85 correspondentes a doses de carga e a dose de manutenção no dia 274, sendo que a dose utilizada foi de 12mg. Na altura da avaliação intermédia todos os doentes estavam há pelo menos 6 meses no estudo, tendo 43% completado a avaliação final marcada para os 15 meses. Os resultados desta análise intermédia mostraram uma eficácia superior do nusinersen quando comparada com o grupo de controlo. Nesta altura o grupo do nusinersen tinha tido um aumento médio na escala HFMSE enquanto que o grupo de controlo tinha tido uma descida na mesma avaliação, resultando numa diferença média de 5,9 pontos entre os grupos (IC: 95%, 3,7-8,1; $P < 0,001$). Após os resultados positivos da análise intermédia o estudo foi interrompido, sendo os doentes convidados a participar num estudo de extensão sem ocultação SHINE, tendo, no entanto, sido acompanhados para avaliação dos resultados finais aos 15 meses. Na análise final, aos 15 meses, manteve-se com uma diferença média entre os dois grupos de 4,9 pontos (IC: 95%, 3,1-6,7). Aos 15 meses, uma maior percentagem de doentes no grupo do nusinersen, quando comparados com o grupo de controlo, tinham tido um aumento da pontuação na escala HFMSE superior ou igual a 3 pontos (57% vs 26%, $P < 0,001$). A quantidade de eventos adversos foi semelhante entre grupos, não tendo sido identificados riscos de segurança significativos associados ao nusinersen.

Este estudo deu informação sobre a eficácia do nusinersen em crianças com SMA de início mais tardio, que seriam classificadas como tipo II ou III. Os doentes medicados com nusinersen tiveram uma evolução mais estável, e pode afirmar-se que este fármaco foi capaz de alterar o curso da doença, apesar de não representar uma cura. Tal como no ensaio ENDEAR, as crianças que receberam o tratamento mais cedo após o início dos sintomas tiveram uma resposta mais satisfatória, o que reforça a importância de um diagnóstico e tratamento precoces.³⁵

4 - Doentes pré-sintomáticos

4.1 - Ensaio Clínico SM201- NURTURE

Este ensaio clínico sem ocultação de fase 2 ainda está a decorrer e avalia a eficácia de injeções intratecais de dose equivalente a 12mg de nusinersen em crianças com diagnóstico genético pré-sintomático de SMA, com 2 ou 3 cópias do gene SMN2. Para serem incluídas no estudo, estas crianças têm de ser assintomáticas e ter uma idade inferior a 6 semanas aquando da primeira dose. O ponto de avaliação primário é o tempo até morte ou necessidade de assistência respiratória permanente, sendo pontos de avaliação secundários a aquisição de etapas motoras através da escala de HINE-2, e alterações na escala CHOP-INTEND, entre outros. Os autores comunicaram resultados preliminares relativos a Outubro de 2016, altura em que 9 das 20 crianças inscritas no estudo alcançaram o dia 365 no estudo. Seis destas crianças tinham 2 cópias do gene SMN2 e as outras três tinham 3 cópias. Após 1 ano de tratamento nenhuma tinha morrido ou precisava de suporte ventilatório, tendo todas atingido as etapas do HINE-2 esperadas numa criança saudável da idade nas categorias controlo cefálico e de pontapear, e 3 das 9 crianças atingiram todas as etapas motoras adequadas à idade nesta escala. Quatro das 9 crianças exibiam sintomatologia compatível com SMA ao dia 365, sendo que todas estas tinham apenas 2 cópias do gene SMN2. Ainda assim, eram capazes de se sentar sem apoio. Estes resultados preliminares sugerem que a utilização pré-sintomática de nusinersen em crianças com diagnóstico genético traz benefícios clínicos significativos. Apesar de se tratar de um estudo sem grupo de controlo, dado estar bem estabelecida a história da progressão da SMA, a sua continuação trará certamente informação mais fidedigna e que orientará estudos futuros.⁴⁰

Conclusões

A aprovação do nusinersen para o tratamento da SMA é um momento de viragem na história desta doença. Pela primeira vez passou a estar disponível uma terapia dirigida à causa da doença, quando até então os cuidados prestados eram principalmente no âmbito do controlo da sintomatologia e cuidados paliativos.^{29, 41}

Os ensaios clínicos analisados mostram claros benefícios na utilização deste fármaco, nomeadamente em doentes com o fenótipo do tipo I e II, visto que estes têm sido os mais abrangidos pelos ensaios clínicos realizados até agora. Os resultados destes estudos mostraram melhorias globais significativas nos doentes que foram submetidos a esta terapia, principalmente no desenvolvimento motor, em que muitos doentes foram capazes de atingir etapas de desenvolvimento que não seriam esperadas tendo em conta o seu fenótipo e a história natural da doença. Esta alteração da história natural da SMA é evidenciada quando doentes com SMA tipo I são capazes de se sentar ou doentes tipo II adquirem marcha autónoma.^{31, 33, 34, 35, 38} O facto de doentes que não mostraram melhorias, serem capazes de manter as capacidades motoras que já tinham, é uma prova clara do benefício do nusinersen, visto que o esperado seria um declínio progressivo dessas capacidades.^{2, 19, 38, 42, 43}

A alteração da história natural da doença dá origem a novos desafios clínicos e considerações éticas.^{44, 45} Por ser uma área de estudo em rápida evolução é exigido aos médicos e restantes elementos da equipa clínica uma constante atualização nas melhores práticas. Por outro lado, decisões de limite de cuidados tomadas previamente e que seriam aceitáveis há poucos anos atrás, podem deixar de ser a opção adequada para os doentes e famílias afetadas por esta doença, e devem ser revistas à luz das novas opções terapêuticas.^{18, 44, 45, 46}

Os resultados dos ensaios clínicos mostram que existe um grau considerável de variabilidade na resposta ao tratamento com nusinersen, pelo que existirão fatores relacionados com a resposta que carecem de estudos mais aprofundados.^{31, 33, 34} Os diversos estudos mostraram um benefício claro no início precoce do tratamento. Assim, devem ser feitos esforços no sentido do diagnóstico precoce de SMA, e na oferta de tratamento às famílias que o desejam. Um grupo de médicos australianos responsáveis por um programa de acesso alargado ao nusinersen recomenda a inclusão do rastreio da SMA no plano de rastreio de doenças em recém-nascidos.^{33, 34, 44} Apesar de o nusinersen estar aprovado para doentes com os vários fenótipos de SMA, são ainda escassos os dados sobre a eficácia nos fenótipos nos extremos da escala de gravidade, nomeadamente tipo 0 e tipo IV, visto que os ensaios clínicos se focaram principalmente nos restantes.⁴⁵

A administração intratecal de nusinersen pode ser um obstáculo à sua utilização, pois exige treino dos profissionais e centros preparados para realizar este procedimento regularmente.^{30, 32} O tempo decorrido desde o início desta terapêutica é ainda curto, pelo que a continua monitorização dos seus resultados poderá levar à necessidade de rever a sua aplicabilidade. Por outro lado, o tratamento com nusinersen é dispendioso, podendo custar cerca de 500.000 euros no primeiro ano. Em Portugal, o INFARMED diz ter capacidade de financiamento e disponibilidade do fármaco nos hospitais do Serviço Nacional de Saúde(SNS) a partir do verão de 2018, o que certamente irá permitir que muitos doentes portugueses tenham acesso a este tratamento.^{47, 48}

Apesar de o nusinersen ser atualmente o único fármaco aprovado para o tratamento da SMA, existem outros fármacos em diferentes fases de investigação, que irão precisar de passar pelo mesmo processo de realização de ensaios clínicos e aprovação. No entanto, haverá barreiras adicionais na seleção de doentes visto que muitos terão já iniciado tratamento com Nusinersen.^{28, 30, 45}

Conclui-se que o nusinersen é uma terapêutica inovadora, com bons resultados de eficácia e segurança iniciais e que, apesar de não ser uma cura, é capaz de alterar significativamente a história da Atrofia Muscular Espinhal. Pela primeira vez passou a estar disponível uma opção terapêutica que atua na origem da patologia destes doentes, proporcionando melhorias significativas nas suas capacidades motoras e sobrevida. Parece por isso importante preparar as equipas hospitalares para a sua utilização e disponibilizar este fármaco aos doentes com SMA, de preferência precocemente para potenciar os ganhos da sua utilização. Conclui-se ainda que a disponibilização do nusinersen marca uma nova era no tratamento destes doentes, e abre a porta para novas terapias no futuro.

Apêndice

Figura 1

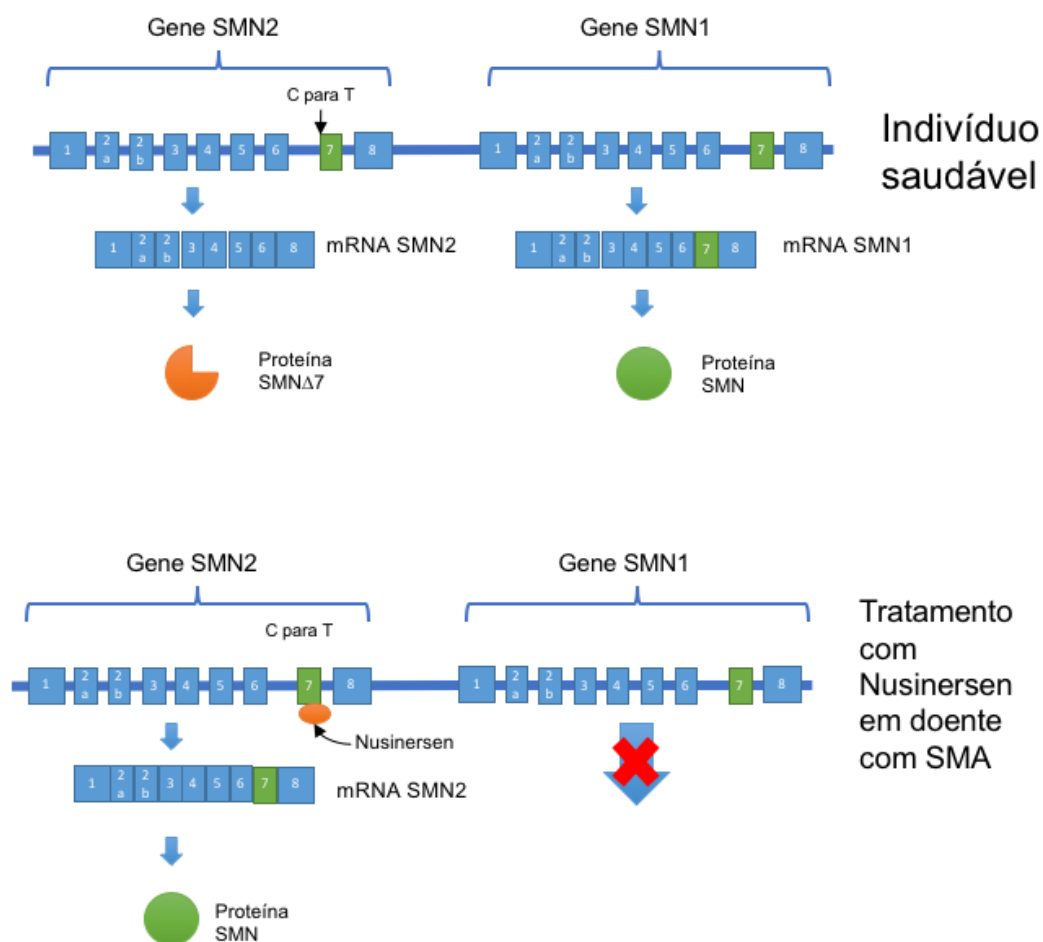


Figura 1: Mecanismo de ação do Nusinersen, levando à inclusão do exão 7 nas cópias de mRNA produzidas a partir do gene SMN2, que darão posteriormente origem a proteína SMN funcional.

Bibliografia

1. Darras BT. Spinal muscular atrophies. *Pediatric clinics of North America*. 2015;62(3):743-66. Epub 2015/05/30. doi: 10.1016/j.pcl.2015.03.010. PubMed PMID: 26022173;
2. Kolb SJ, Kissel JT. Spinal Muscular Atrophy. *Neurologic clinics*. 2015;33(4):831-46. Epub 2015/10/31. doi: 10.1016/j.ncl.2015.07.004. PubMed PMID: 26515624;
3. Lefebvre S, Burlet P, Liu Q, *et al.* Correlation between severity and SMN protein level in spinal muscular atrophy. *Nat Genet*. 1997;16(3):265-9. Epub 1997/07/01. doi: 10.1038/ng0797-265. PubMed PMID: 9207792;
4. Mailman MD, Heinz JW, Papp AC, *et al.* Molecular analysis of spinal muscular atrophy and modification of the phenotype by SMN2. *Genet Med*. 2002;4(1):20-6. Epub 2002/02/13. doi: 10.1097/00125817-200201000-00004. PubMed PMID: 11839954;
5. Riessland M, Kaczmarek A, Schneider S, *et al.* Neurocalcin Delta Suppression Protects against Spinal Muscular Atrophy in Humans and across Species by Restoring Impaired Endocytosis. *Am J Hum Genet*. 2017;100(2):297-315. Epub 2017/01/31. doi: 10.1016/j.ajhg.2017.01.005. PubMed PMID: 28132687;
6. Sugarman EA, Nagan N, Zhu H, *et al.* Pan-ethnic carrier screening and prenatal diagnosis for spinal muscular atrophy: clinical laboratory analysis of >72,400 specimens. *Eur J Hum Genet*. 2012;20(1):27-32. Epub 2011/08/04. doi: 10.1038/ejhg.2011.134. PubMed PMID: 21811307;
7. Ogino S, Wilson RB, Gold B. New insights on the evolution of the SMN1 and SMN2 region: simulation and meta-analysis for allele and haplotype frequency calculations. *Eur J Hum Genet*. 2004;12(12):1015-23. Epub 2004/10/08. doi: 10.1038/sj.ejhg.5201288. PubMed PMID: 15470363;
8. Prior TW, Snyder PJ, Rink BD, *et al.* Newborn and carrier screening for spinal muscular atrophy. *American journal of medical genetics Part A*. 2010;152A(7):1608-16. Epub 2010/06/26. doi: 10.1002/ajmg.a.33474. PubMed PMID: 20578137;
9. Prior TW, Finanger E. Spinal Muscular Atrophy. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, *et al.*, editors. *GeneReviews(R)*. Seattle (WA)1993.
10. Mercuri E, Bertini E, Iannaccone ST. Childhood spinal muscular atrophy: controversies and challenges. *The Lancet Neurology*. 2012;11(5):443-52. Epub 2012/04/21. doi: 10.1016/S1474-4422(12)70061-3. PubMed PMID: 22516079;
11. Dubowitz V. Very severe spinal muscular atrophy (SMA type 0): an expanding clinical phenotype. *Eur J Paediatr Neurol*. 1999;3(2):49-51. Epub 2000/03/04. doi: 10.1053/ejpn.1999.0181. PubMed PMID: 10700538;
12. MacLeod MJ, Taylor JE, Lunt PW, Mathew CG, Robb SA. Prenatal onset spinal muscular atrophy. *Eur J Paediatr Neurol*. 1999;3(2):65-72. Epub 2000/03/04. doi: 10.1053/ejpn.1999.0184. PubMed PMID: 10700541;
13. Finkel RS, McDermott MP, Kaufmann P, *et al.* Observational study of spinal muscular atrophy type I and implications for clinical trials. *Neurology*. 2014;83(9):810-7. Epub 2014/08/01. doi: 10.1212/WNL.0000000000000741. PubMed PMID: 25080519;
14. Thomas NH, Dubowitz V. The natural history of type I (severe) spinal muscular atrophy. *Neuromuscular disorders : NMD*. 1994;4(5-6):497-502. Epub 1994/09/01. PubMed PMID: 7881295;
15. Zerres K, Rudnik-Schoneborn S. Natural history in proximal spinal muscular atrophy. Clinical analysis of 445 patients and suggestions for a modification of existing classifications. *Arch Neurol*. 1995;52(5):518-23. Epub 1995/05/01. PubMed PMID: 7733848;
16. Alias L, Bernal S, Fuentes-Prior P, *et al.* Mutation update of spinal muscular atrophy in Spain: molecular characterization of 745 unrelated patients and identification of four novel mutations in the SMN1 gene. *Hum Genet*. 2009;125(1):29-39. Epub 2008/12/04. doi: 10.1007/s00439-008-0598-1. PubMed PMID: 19050931;
17. Feldkötter M, Schwarzer V, Wirth R, Wienker TF, Wirth B. Quantitative analyses of SMN1 and SMN2 based on real-time lightCycler PCR: fast and highly reliable carrier testing

and prediction of severity of spinal muscular atrophy. *Am J Hum Genet.* 2002;70(2):358-68. Epub 2002/01/16. doi: 10.1086/338627. PubMed PMID: 11791208;

18. Arnold WD, Kassar D, Kissel JT. Spinal muscular atrophy: diagnosis and management in a new therapeutic era. *Muscle Nerve.* 2015;51(2):157-67. Epub 2014/10/28. doi: 10.1002/mus.24497. PubMed PMID: 25346245;
19. Zerres K, Rudnik-Schoneborn S, Forrest E, *et al.* A collaborative study on the natural history of childhood and juvenile onset proximal spinal muscular atrophy (type II and III SMA): 569 patients. *Journal of the neurological sciences.* 1997;146(1):67-72. Epub 1997/02/27. PubMed PMID: 9077498;
20. Piepers S, van den Berg LH, Brugman F, *et al.* A natural history study of late onset spinal muscular atrophy types 3b and 4. *J Neurol.* 2008;255(9):1400-4. Epub 2008/06/26. doi: 10.1007/s00415-008-0929-0. PubMed PMID: 18575920;
21. Schroth MK. Special considerations in the respiratory management of spinal muscular atrophy. *Pediatrics.* 2009;123 Suppl 4:S245-9. Epub 2009/05/09. doi: 10.1542/peds.2008-2952K. PubMed PMID: 19420154;
22. Wang CH, Finkel RS, Bertini ES, *et al.* Consensus statement for standard of care in spinal muscular atrophy. *J Child Neurol.* 2007;22(8):1027-49. Epub 2007/09/01. doi: 10.1177/0883073807305788. PubMed PMID: 17761659;
23. Iannaccone ST. Modern management of spinal muscular atrophy. *J Child Neurol.* 2007;22(8):974-8. Epub 2007/09/01. doi: 10.1177/0883073807305670. PubMed PMID: 17761652;
24. Durkin ET, Schroth MK, Helin M, Shaaban AF. Early laparoscopic fundoplication and gastrostomy in infants with spinal muscular atrophy type I. *J Pediatr Surg.* 2008;43(11):2031-7. Epub 2008/10/31. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2008.05.035. PubMed PMID: 18970936;
25. Granata C, Merlini L, Magni E, Marini ML, Stagni SB. Spinal muscular atrophy: natural history and orthopaedic treatment of scoliosis. *Spine (Phila Pa 1976).* 1989;14(7):760-2. Epub 1989/07/01. PubMed PMID: 2772728;
26. Fajak A, Ingenhorst A, Heuser K, Forst R, Forst J. Treatment of scoliosis in intermediate spinal muscular atrophy (SMA type II) in childhood. *Ortop Traumatol Rehabil.* 2005;7(2):175-9. Epub 2007/07/07. PubMed PMID: 17615511;
27. Ottesen EW. ISS-N1 makes the First FDA-approved Drug for Spinal Muscular Atrophy. *Transl Neurosci.* 2017;8:1-6. Epub 2017/04/13. doi: 10.1515/tnsci-2017-0001. PubMed PMID: 28400976;
28. Parente V, Corti S. Advances in spinal muscular atrophy therapeutics. *Ther Adv Neurol Disord.* 2018;11:1756285618754501. Epub 2018/02/13. doi: 10.1177/1756285618754501. PubMed PMID: 29434670;
29. Shorrock HK, Gillingwater TH, Groen EJM. Overview of Current Drugs and Molecules in Development for Spinal Muscular Atrophy Therapy. *Drugs.* 2018;78(3):293-305. Epub 2018/01/31. doi: 10.1007/s40265-018-0868-8. PubMed PMID: 29380287;
30. Groen EJM, Talbot K, Gillingwater TH. Advances in therapy for spinal muscular atrophy: promises and challenges. *Nat Rev Neurol.* 2018;14(4):214-24. Epub 2018/02/10. doi: 10.1038/nrneurol.2018.4. PubMed PMID: 29422644;
31. Chiriboga CA, Swoboda KJ, Darras BT, *et al.* Results from a phase 1 study of nusinersen (ISIS-SMN(Rx)) in children with spinal muscular atrophy. *Neurology.* 2016;86(10):890-7. Epub 2016/02/13. doi: 10.1212/WNL.0000000000002445. PubMed PMID: 26865511;
32. Hache M, Swoboda KJ, Sethna N, *et al.* Intrathecal Injections in Children With Spinal Muscular Atrophy: Nusinersen Clinical Trial Experience. *J Child Neurol.* 2016;31(7):899-906. Epub 2016/01/30. doi: 10.1177/0883073815627882. PubMed PMID: 26823478;
33. Finkel RS, Chiriboga CA, Vajsar J, *et al.* Treatment of infantile-onset spinal muscular atrophy with nusinersen: a phase 2, open-label, dose-escalation study. *Lancet.* 2016;388(10063):3017-26. Epub 2016/12/13. doi: 10.1016/S0140-6736(16)31408-8. PubMed PMID: 27939059;

34. Finkel RS, Mercuri E, Darras BT, *et al.* Nusinersen versus Sham Control in Infantile-Onset Spinal Muscular Atrophy. *N Engl J Med.* 2017;377(18):1723-32. Epub 2017/11/02. doi: 10.1056/NEJMoa1702752. PubMed PMID: 29091570;
35. Mercuri E, Darras BT, Chiriboga CA, *et al.* Nusinersen versus Sham Control in Later-Onset Spinal Muscular Atrophy. *N Engl J Med.* 2018;378(7):625-35. Epub 2018/02/15. doi: 10.1056/NEJMoa1710504. PubMed PMID: 29443664;
36. Shieh PB, Acsadi G, Mueller-Felber W, *et al.* Safety and Efficacy of Nusinersen in Infants/Children with Spinal Muscular Atrophy (SMA): Part 1 of the Phase 2 EMBRACE Study (P2.324). *Neurology.* 2018;90.
37. Brauser D. SHINE: Longer-term Use of Nusinersen Safe, Effective in Infantile-Onset SMA 2018 [atualizado em 26-04-2018]. Disponível em: <https://www.medscape.com/viewarticle/895795>.
38. Chiriboga CA. Nusinersen for the treatment of spinal muscular atrophy. *Expert Rev Neurother.* 2017;17(10):955-62. Epub 2017/09/09. doi: 10.1080/14737175.2017.1364159. PubMed PMID: 28884620;
39. Maharshi V, Hasan S. Nusinersen: The First Option Beyond Supportive Care for Spinal Muscular Atrophy. *Clin Drug Investig.* 2017;37(9):807-17. Epub 2017/07/30. doi: 10.1007/s40261-017-0557-5. PubMed PMID: 28755059;
40. Hwu W, De D, Bertini E, *et al.* Outcomes after 1-year in presymptomatic infants with genetically diagnosed spinal muscular atrophy (SMA) treated with nusinersen: interim results from the NURTURE study. *Neuromuscular Disorders.* 2017;27:S212. doi: 10.1016/j.nmd.2017.06.424.
41. d'Ydewalle C, Sumner CJ. Spinal Muscular Atrophy Therapeutics: Where do we Stand? *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics.* 2015;12(2):303-16. Epub 2015/01/30. doi: 10.1007/s13311-015-0337-y. PubMed PMID: 25631888;
42. Arnold ES, Fischbeck KH. Spinal muscular atrophy. *Handb Clin Neurol.* 2018;148:591-601. Epub 2018/02/27. doi: 10.1016/B978-0-444-64076-5.00038-7. PubMed PMID: 29478602;
43. Lunn MR, Wang CH. Spinal muscular atrophy. *Lancet.* 2008;371(9630):2120-33. Epub 2008/06/24. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60921-6. PubMed PMID: 18572081;
44. Farrar MA, Teoh HL, Carey KA, *et al.* Nusinersen for SMA: expanded access programme. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2018. Epub 2018/03/20. doi: 10.1136/jnnp-2017-317412. PubMed PMID: 29549190;
45. Tizzano EF, Finkel RS. Spinal muscular atrophy: A changing phenotype beyond the clinical trials. *Neuromuscular disorders : NMD.* 2017;27(10):883-9. Epub 2017/08/02. doi: 10.1016/j.nmd.2017.05.011. PubMed PMID: 28757001;
46. Farrar MA, Park SB, Vucic S, *et al.* Emerging therapies and challenges in spinal muscular atrophy. *Annals of neurology.* 2017;81(3):355-68. Epub 2016/12/28. doi: 10.1002/ana.24864. PubMed PMID: 28026041;
47. Infarmed junta associação de doentes e indústria em processo de avaliação de um medicamento 29-03-2018 [citado em 01-05-2018]. Disponível em: <http://www.infarmed.pt/documents/15786/1879176/Infarmed+junta+associa%C3%A7%C3%A3o+de+doentes+e+ind%C3%BAstria++em+processo+de+avalia%C3%A7%C3%A3o+de+um+medicamento/d5580204-8858-4628-8076-f99e10d99019>
48. Ferro C. Medicamento que pode salvar crianças com doença rara disponível no verão. *Diário de Notícias.* 2018 29-03-2018.